

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-180888

(43) 公開日 平成11年(1999) 7月6日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	F I	
A 6 1 K 35/78	A D Z	A 6 1 K 35/78	A D Z H
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	B
A 6 1 K 31/35		A 6 1 K 31/35	
// A 6 1 K 9/08		9/08	E

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願平9-355551

(22) 出願日 平成9年(1997)12月24日

(71) 出願人 000206956

大塚製薬株式会社

東京都千代田区神田司町2丁目9番地

(72) 発明者 菊地 幹雄

神奈川県鎌倉市今泉台4-29-14

(72) 発明者 山平 聡子

福岡県久留米市長門石5-8-14 第1ハ
イマート執行201号

(72) 発明者 分部 浩和

徳島県鳴門市大津町徳永字川向西ノ越11-
22

(74) 代理人 弁理士 亀井 弘勝 (外1名)

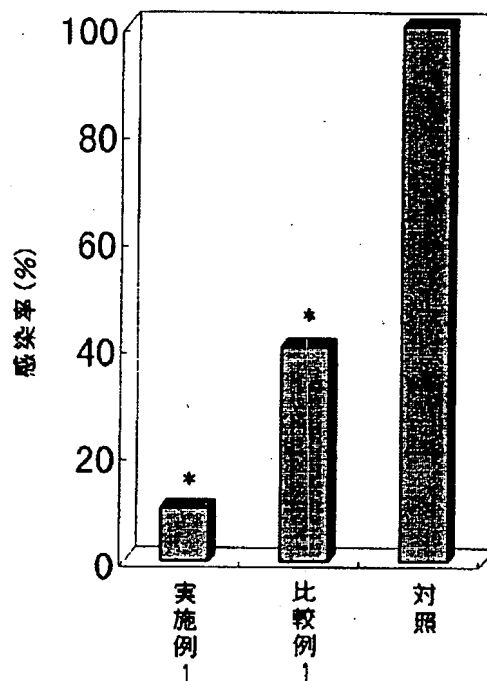
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヘリコバクター・ピロリ菌用の抗菌剤、感染予防剤および食品

(57) 【要約】

【課題】 本発明の目的は、人体にとって安全であると共に、ヘリコバクター・ピロリ菌に対して優れた抗菌作用を有する新規な薬剤、感染予防および食品を提供することである。

【解決手段】 バラ科に属する果実より分離された果実ポリフェノールを有効成分として含有したヘリコバクター・ピロリ菌用の抗菌剤、感染予防剤および食品である。



*: p < 0.01

【特許請求の範囲】

【請求項1】バラ科に属する果実から得られる果実ポリフェノール含有果汁または該果汁より分離された果実ポリフェノールを有効成分として含有したヘリコバクター・ピロリ菌用の抗菌剤。

【請求項2】バラ科に属する果実から得られる果実ポリフェノール含有果汁または該果汁より分離された果実ポリフェノールを有効成分として含有したヘリコバクター・ピロリ菌用の感染予防剤。

【請求項3】バラ科に属する果実から得られる果実ポリフェノール含有果汁または該果汁より分離された果実ポリフェノールを含有した、抗ヘリコバクター・ピロリ菌作用を有する食品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はヘリコバクター・ピロリ菌用の抗菌剤、感染予防剤および食品に関する。

【0002】

【従来の技術】近時、慢性胃炎、胃・十二指腸潰瘍などの胃腸疾患の発症に、グラム陰性菌であるヘリコバクター・ピロリ菌が深く関与していることが明らかとなった(Med. J. Aust., 142, 436(1985)、Gastroenterology, 102, 1575(1992)、N. Engl. J. Med., 328, 308(1993))。

【0003】従来、潰瘍性疾患の治療には、ソファルコン、プロウノトールなどの抗潰瘍剤；オメプラゾール、ランソプラゾールなどのプロトンポンプ阻害剤；ファモチジン、シメチジンなどの胃酸分泌抑制剤が使用されていた。しかし、これらの薬物はヘリコバクター・ピロリ菌に対する増殖抑制などの効果を奏し得るものでなく、別途、抗菌剤による治療が必要である。

【0004】ところで、上記ヘリコバクター・ピロリ菌は、その生存環境が胃粘膜上皮内にあり且つその分裂時間が通常の細菌の何倍も長いことを特徴とするものである。従って、上記ヘリコバクター・ピロリ菌に有効な抗菌剤としては、酸に安定で、胃粘膜間への浸透性があり、しかも高い抗菌作用を有することが必要とされる。in vitroにおいてヘリコバクター・ピロリ菌に対して抗菌作用を有する薬剤としては、アモキシシリン、クラリスロマイシンなどの抗生物質；メトロニダゾール、チニダゾールなどのニトロニダゾール系抗虫剤；ビスマス製剤などが知られている。

【0005】しかし、これら抗菌剤はin vivo において十分な抗菌効果を発揮できず、現状では抗生物質、抗虫剤およびビスマス製剤による3重療法が最も有効な手段とされている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】ところが、前記3重療法においても、胃潰瘍や十二指腸潰瘍などの患者に対しては満足ゆく治療が行えず、薬剤の投与量が通常よりも多くなり、しかも長期にわたる薬剤の投与が必要であ

る。その結果、薬剤の副作用あるいは耐性菌の形成などが懸念されている。また、感染予防に有用な薬剤または食品が求められている。

【0007】特開平5-139972号公報には、茶に含まれる、カテキン類、エピカテキン類、テアフラビンガレードなどの単純ポリフェノール化合物を有効成分として含有する、胃炎、胃または十二指腸潰瘍防止組成物が開示されている。しかし、かかる組成物は、後述する実施例から明らかなように、ヘリコバクター・ピロリ菌に対する抗菌作用が、不十分である。

【0008】そこで本発明の目的は、人体にとって安全であると共に、ヘリコバクター・ピロリ菌に対して優れた抗菌作用を有し、該ヘリコバクター・ピロリ菌の感染に対しても高い予防効果を奏する新規な薬剤を提供することである。また本発明の他の目的は、人体にとって安全であると共に、抗ヘリコバクター・ピロリ菌作用を有し、治療や予防に有用な食品を提供することである。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、ヘリコバクター・ピロリ菌に対して抗菌作用を有する薬剤を開発すべく鋭意研究を重ねた結果、リンゴ、ナシ、モモなどのバラ科に属する果実中に含まれる果実ポリフェノールが、ヘリコバクター・ピロリ菌に対して優れた抗菌作用を有すると共に、安全性が高いという新たな事実を見出し、本発明を完成するに至ったのである。

【0010】すなわち、本発明のヘリコバクター・ピロリ菌用抗菌剤は、バラ科に属する果実から得られる果実ポリフェノール含有果汁または該果汁より分離された果実ポリフェノールを有効成分として含有することを特徴とする。また本発明のヘリコバクター・ピロリ菌感染予防剤は、バラ科に属する果実から得られる果実ポリフェノール含有果汁または該果汁より分離された果実ポリフェノールを有効成分として含有したことを特徴とする。

【0011】さらに本発明の抗ヘリコバクター・ピロリ菌作用を有する食品は、バラ科に属する果実から得られる果実ポリフェノール含有果汁または該果汁より分離された果実ポリフェノールを含有したことを特徴とする。なお、特開平7-285876号公報には、前記果実ポリフェノールが血圧降下、抗突然変異、抗アレルギー、抗う蝕、消臭などの生理作用を有することが開示されている。

【0012】また特開平8-259453号公報には、上記公報に開示の果実ポリフェノールを含有する搾汁果汁が同様の生理作用を有することが開示されている。ところが、上記何れの公報にも、果実ポリフェノールがヘリコバクター・ピロリ菌に対して抗菌作用（感染予防作用を含む、以下同じ）を有することは記載されていない。

【0013】

【発明の実施の形態】本発明における前記果実ポリフェ

ノール含有果汁は、リンゴ、ナシ、モモなどのバラ科の果実の搾汁果汁または抽出液からなる。また、本発明における果実ポリフェノールは、上記果実ポリフェノール果汁より分離精製されたものである。

【0014】上記リンゴ、ナシ、モモなどのバラ科の果実としては、成熟果実および未熟果実いずれも使用することができるが、より多くの果実ポリフェノールを含有する未熟果実を使用するのが好ましく、例えばリンゴの場合には、果実一個当りの重量が5～20g程度の未熟果実が好適である。上記果実の搾汁または抽出方法としては、従来より天然物化学の分野で慣用の方法に準じて行われ、例えば搾汁方法としては、洗浄した原料をそのまま、または亜硫酸もしくはビタミンC、エリソルビン酸等の酸化剤を添加しながら粉碎、圧搾により搾汁果汁を得、好ましくはペクチン分解酵素を添加する。ついで遠心分離、濾過等の手段により清澄果汁を得る方法があげられる。

【0015】また抽出方法としては、例えば洗浄した原料をアルコール（メタノール、エタノール等）と混合して粉碎し、そのまま浸漬および圧搾、または加熱還流しながら抽出し、ついで減圧濃縮によりアルコールを留去した後、遠心分離および濾過、または有機溶媒（ヘキサン、クロロホルム等）による分配および濾過を行い、清澄抽出液を得る方法があげられる。

【0016】上記得られた果実の搾汁果汁または抽出液から果実ポリフェノールを分離精製するには、例えばオクタデシル基化学結合型シリカゲル（ODS）等のカラムに、前記搾汁果汁または抽出液を通すことにより果実ポリフェノール画分を選択的に樹脂に吸着させ、前記搾汁果汁または抽出液中に共存する糖成分や有機酸成分等を分離処理する。ついで、吸着した果実ポリフェノール画分を含水アルコールで溶出させることにより、果実ポリフェノール画分が溶出、回収した後、濃縮することにより、液状の果実ポリフェノールが得られる。

【0017】上記得られた果実ポリフェノール含有果汁およびこれから分離された果実ポリフェノールには、p-クマル酸誘導体；クロロゲン酸を主体とするカフェー酸誘導体；カテキン、エピカテキンなどの単純カテキン類；ケルセチン配糖体類；ジヒドロカルコン（フロレチン配糖体）類などの単純ポリフェノール化合物、さらに平均分子量が1000～3000、好ましくは2000～2500の縮合型タンニン類（くり返し単位（n）が2～15、好ましくは2～9であるエピカテキンの高次重合体）などの縮合型ポリフェノール化合物が含有される。

【0018】なお本発明の抗菌剤において、ヘリコバクターピロリ菌に対して優れた抗菌効果を発揮するには、前記縮合型ポリフェノール化合物が、果実ポリフェノール総量に対してプロシアニジンB2換算量（比色法にて測定）で35%以上、好ましくは40～60%含有され

る果実ポリフェノールを有効成分として使用するのがよい。

【0019】本発明では、上記果実ポリフェノール含有果汁または果実ポリフェノールにデキストリン等の粉末助剤を必要に応じて添加し、噴霧乾燥もしくは凍結乾燥して得られる粉末を有効成分として使用してもよい。本発明の有効成分として使用する果実ポリフェノールは、下記①～④の物性を有する。

① 呈味性

液状および粉末状ともに苦味を有するが、他の起源から得られるポリフェノールほど苦味はなく、製剤形態に使用する範囲においては影響を及ぼすものではない。

② 水に対する溶解性

果実ポリフェノールは、水に対して容易に溶け、100%粉末で室温で30%以上溶解する。

③ 安定性および保存性

熱、酸に安定であり、粉末は一年間室温にて長期保存しても成分に変化はみられない。

④ 安全性

果実ポリフェノールは、日常、食しているリンゴ、ナシ、モモなどの果実の成長過程にある未熟果実に多く含有されるものであり、成分的にも成熟果実に比べて特に異質な成分が含まれているおそれはなく、安全性に関して問題はない。

【0020】従って、果実ポリフェノール含有果汁およびこれから分離された果実ポリフェノールは、医薬品形態または食品の形態で使用するのに好適である。本発明の抗菌剤または感染予防剤を液剤の形態で使用するには、上記果実ポリフェノール含有果汁または該果汁より分離された果実ポリフェノールに、安息香酸ナトリウム、p-オキシ安息香酸メチル、デヒドロ酢酸ナトリウムなどの保存剤、サリチル酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、安息香酸ナトリウムなどの溶解補助剤、さらに着色剤、香料、風味剤、甘味剤などを必要に応じて配合し、さらに水またはエタノールなどの希釈剤を必要に応じて加えて調製される。

【0021】粉末状の果実ポリフェノール含有果汁または該果汁より分離された果実ポリフェノールを有効成分として使用する場合には、通常、錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、座剤等の固形製剤の形態に調製する。その際、これらの医薬製剤は通常使用される充填剤、増量剤、結合剤、付湿剤、崩壊剤、表面活性剤、滑沢剤などの稀釈剤又は賦形剤を用いて調整される。

【0022】錠剤の形態に形成するに際しては、担体としてこの分野で従来公知のものを広く使用でき、例えば乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、尿素、でんぷん、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、珪酸などの賦形剤、水、エタノール、プロパノール、単シロップ、ブドウ糖液、でんぷん液、ゼラチン溶液、カルボキシメチルセルロース、リン酸カリウム、ポリビニルピ

ロリドンなどの結合剤、乾燥デンプンアルギン酸ナトリウム、カンテン末、ラミナラン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド、デンプン、乳糖などの崩壊剤、白糖、ステアリン、カカオバター、水素添加油などの崩壊抑制剤、第四級アンモニウム塩基、ラウリル硫酸ナトリウムなどの吸収促進剤、グリセリン、デンプン、乳糖、カオリン、ベントナイト、コロイド状珪酸などの吸着剤、精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ酸末、ポリエチレングリコールなどの滑沢剤などがあげられる。さらに錠剤は、必要に応じて糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被包錠、フィルムコーティング錠あるいは二重錠、多層錠とすることができる。

【0023】丸剤の形態に成形するに際しては、担体としてこの分野で従来公知のものを広く使用でき、例えばブドウ糖、乳糖、デンプン、カカオ脂、硬化植物油、カオリン、タルクなどの賦形剤、アラビアゴム末、トラガント末、ゼラチン、エタノールなどの崩壊剤などがあげられる。座剤の形態に成形するに際しては、担体として従来公知のものを広く使用でき、例えばポリエチレングリコール、カカオ脂、高級アルコール、高級アルコールのエステル類、ゼラチン、半合成グリセライドなどがあげられる。

【0024】有効成分として使用する果実ポリフェノールの含有量は特に限定されず広範囲に選択されるが、通常製剤中に1~90重量%、好ましくは10~70重量%で含有させるのがよい。また、果実ポリフェノール含有果汁を使用する場合にも、該果汁中に含有される果実ポリフェノールが上記範囲となるような量で投与される。

【0025】投与量は特に限定されないが、用法、患者の年齢、性別、疾患の程度などの条件に応じて適宜選択すればよく、体重1kgに対して果実ポリフェノールが0.1~100mg、好ましくは5~20mgとなる量を一日1~4回に分けて投与される。また、果実ポリフェノール含有果汁を使用する場合にも、該果汁中に含有される果実ポリフェノールが上記範囲となるような量で投与される。

【0026】本発明では、上記果実ポリフェノールを菓子、製パン、油脂含有食品、清涼飲料などの食品に含有させて使用することができる。その際、果実ポリフェノールが食品中に0.001~90重量%、好ましくは0.01~50重量%で含有させるのがよい。また、果実ポリフェノール含有果汁を使用する場合にも、該果汁中に含有される果実ポリフェノールが上記範囲となるような量で投与される。

【0027】本発明の抗菌剤または感染予防剤には、他の薬理作用を有する薬剤、例えばアモキシシリン、クラリスロマイシンなどの抗生物質；チニダゾール、チアベ

ンダゾールなどのイミダゾール系の抗寄生虫剤；ビスマス製剤やソファルコン、プロウノールなどの抗潰瘍剤；オメプラゾール、ランソプラゾールなどのプロトンポンプ阻害剤などと併用してもよい。

【0028】

【実施例】以下に、実施例および比較例を挙げて本発明を詳細に説明する。

実施例1

リンゴから分離精製されたリンゴポリフェノール「アップルフェノン100」（ニッカウキスキー（株）製）5~50mgを蒸留水に溶解させ、リンゴポリフェノール0.30mg/ml含有の液剤を調製した。

【0029】なお「アップルフェノン100」は、縮合型ポリフェノールの含有量が、プロシアニジンB2換算量（比色法にて測定）で45%のものを使用した。また、「アップルフェノン100」中のクロロゲン酸、カテキン、エピカテキンおよびフロリジンの含有量は、それぞれ25%、10%、10%、10%（HPLC法により測定）であることを確認した。

比較例1

リンゴポリフェノールに代えて、茶のポリフェノール「ポリフェノン60A」（三井農林（株）製、成分組成：エピガロカテキン25%、エピカテキン12%、エピガロカテキンガレート41%、エピカテキンガレート13%、ガロカテキンガレート7%、カテキンガレート2%）5~50mgを使用した以外は実施例1と同様にして、茶のポリフェノール0.30mg/ml含有の液剤を調製した。

抗菌試験

（接種用ヘリコバクター・ピロリ菌液の調製）臨床分離株ヘリコバクター・ピロリ菌C0001保存液0.1mlを、7%FBS（Gibco）添加Brucella agar（DCM社製、ブルセラ寒天培地）に塗布し、85%窒素、10%二酸化炭素、5%酸素の雰囲気下、37℃で2日間培養した。

【0030】について、前記寒天培地から菌体を掻き取り、7%FBS添加Brucella broth 20mlに懸濁させた後、85%窒素、10%二酸化炭素、5%酸素の雰囲気下、37℃で1日間前培養を行った。さらに、前培養液5mlを、7%FBS添加Brucella broth（BBL社製、ブルセラ液体培地）45mlに接種し、85%窒素、10%二酸化炭素、5%酸素の雰囲気下、37℃で1日培養することにより、接種菌液（ 10^7 cfu/ml）を調製した。

（実験方法）被験動物として雄性ddYマウス（3週齢、日本エスエルシー（株））を大塚製薬（株）徳島研究所Hi-zタワー5階アイソレーター実験室に搬入し、飼育期間中は飼料（マウス用CRF1固形飼料、オリエンタル酵母工業（株）社製）および飲料水（注射用蒸留水）は自由摂取とし、搬入4日目に一晚絶食させた。

【0031】ついで、前記マウスに、接種用ヘリコバクター・ピロリ菌液0.8mlを強制的に経口投与し、ヘリコバクター・ピロリ菌を感染させた。感染後7日目から16日目までの10日間、上記マウス（各群10匹）に、実施例および比較例の各供試液剤を1日に体重10g当たり0.05mlの投与量で1日2回、午前9時と午後3時とに分けて強制的に経口投与した。被験物の投与後10日目に、マウスを一晩絶食させ、屠殺し、胃を摘出した。

【0032】上記摘出した胃をBrucella broth 2ml入りの15ml遠沈管に加え、氷冷下でポリロン（Kinematica社製、ホモジナイザー）を用いてホモジナイズした。このうち0.2mlを、24ウェル（well）のマイクロプレートに分注したBrucella broth 0.8mlに添加混合し、上記と同様の操作を2回繰り返して、50倍、250倍および1250倍希釈液を調製した。

【0033】前記希釈液から各々0.2mlを変法スキロー寒天培地（日本水産（株）社製）に塗布し、85%窒素、10%二酸化炭素、5%酸素の雰囲気下、37℃で5日間培養した後、生育したコロニーを計数することにより胃内に生息するヘリコバクター・ピロリ菌数を測定し、各液剤の抗菌効果について評価した。なお、対照として蒸留水を用いて、上記と同様にして実験を行っ

た。

【0034】上記各供試薬剤について、対照におけるヘリコバクター・ピロリ菌の感染率を100%としたときの感染率（%）を棒グラフで表した。その結果を図1に示す。図1の結果から明らかなように、対照と実施例1および比較例1との間に、Fisher's exact probability Testで有意な差（ $p < 0.01$ ）が認められた。

【0035】また実施例1は、比較例1に比べてヘリコバクター・ピロリ菌の感染率が4分の1となることがわかった。

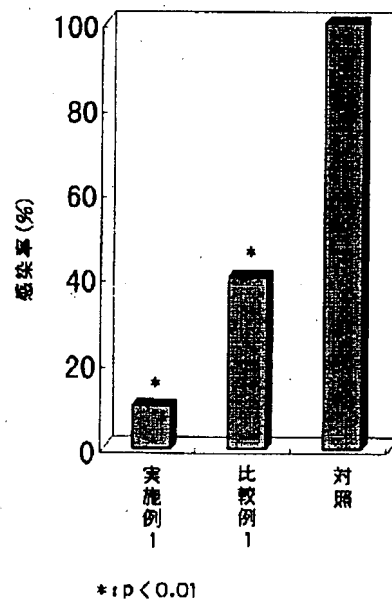
【0036】

【発明の効果】本発明は、ヘリコバクター・ピロリ菌に対して優れた抗菌力を有すると共に、使用する有効成分はリンゴ、ナシ、モモなどのバラ科の果実に含有される成分であることから安全性が高い。従って、本発明の抗菌剤、感染予防剤および食品は、ヘリコバクター・ピロリ菌が起因する慢性胃炎、胃・十二指腸潰瘍などの胃腸疾患の治療や予防に好適である。

【図面の簡単な説明】

【図1】対照におけるヘリコバクター・ピロリ菌の感染率を100%としたときの各供試薬剤の感染率を示すグラフである。

【図1】



フロントページの続き

(72)発明者 木村 弘之

福岡県久留米市日ノ出町72-6-305

(72)発明者 清水 精一

佐賀県鳥栖市元町1237-2-1001

(72)発明者 岡松 洋
福岡県久留米市津福今町491-15

(72)発明者 斎藤 高雄
福岡県小郡市寺福童496-12-505
(72)発明者 今田 拓磨
佐賀県神埼郡神埼町大字本堀2583-7